

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DE POSTGRADO

**Efecto de la concentración de la raíz fresca de yacon
“Smallanthus sonchifolia” en su capacidad antioxidante
frente a la formación de radicales libres**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Nutrición

AUTOR

Mariluz Yesica Chura Muñuico

ASESORA

Luzmila Victoria Troncoso Corzo

Lima – Perú

2013

DEDICATORIA

*Con eterna gratitud e inmenso amor
a DIOS por la vida y amor
que me dio.*

*A mi Esposo Edson y mis hijas
Norelhy y Shaiel, por su amor
verdadero, porque son fuente
de inspiración de mis mejores
sentimientos y mis mayores
esfuerzos.*

*Con mucho cariño a mis padres Simón y
Mercedes por su comprensión, apoyo
y fortaleza para seguir adelante.*

*A mi querida hermana Ruth
por el cariño y apoyo de toda
la vida.*

AGRADECIMIENTO

- *A Dios por la vida y la oportunidad que me dio de estudiar, que gracias a su dirección, cuidado y fortaleza culmine la Maestría.*
- *Mi más sincero agradecimiento a la Doctora Luzmila troncozo Corzo y Doctor Emilio Guija asesores de la tesis, quienes me brindaron su gran amistad, confianza e inmensurable apoyo en el patrocinio de la tesis.*
- *A mis amigos de la maestría con quienes aprendí, compartí sentimientos más nobles llenos de alegría, entusiasmo, y con mucho optimismo.*

I N D I C E

1. Dedicatorias	ii
2. Agradecimiento	iii
3. Índice	iv
4. Lista de Gráficos	v
5. Lista de Tablas	vi
6. Resumen	vii
7. Introducción	1
8. Marco teórico	3
9. Metodología	24
10. Resultados	32
11. Discusión	42
12. Conclusiones	46
13. Recomendaciones	47
14. Bibliografía	48
15. Anexos	57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1.- Efecto de la raíz de yacón blanco sobre la generación de radicales hidroxilo realizado por el sistema ascorbato/Cu-II.....	32
Gráfico 2.- Regraficación del efecto de la raíz de yacón blanco sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	33
Gráfico 3. Efecto de la raíz de yacón morado sobre los radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	34
Gráfico 4.- Regraficación del efecto de la raíz de yacón morado sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	34
Gráfico 5. Efecto de la hoja de yacón blanco sobre los radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	35
Gráfico 6.- Regraficación del efecto de las hojas de yacón blanco sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	35
Gráfico 7. Efecto de las hojas de yacón morado sobre los radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	36
Gráfico 8.- Regraficación del efecto de las hojas de yacón morado sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.....	36
Gráfico 9. Valores FRAP en función del contenido de polifenoles.....	40

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores Cl_{50} utilizando la técnica DPPH de las hojas y raíces del yacón.....	37
Tabla 2. Valores de $ABTS^+$ de las hojas y raíces de yacón blanco y morado.....	37
Tabla 3.- Capacidad antioxidante de las hojas y raíces de yacón evaluadas con la técnica FRAP.....	38
Tabla 4.- Contenido de polifenoles de hojas y raíces de yacón blanco y morado.....	38
Tabla 5.- Contenido de flavonoides de hojas y raíces de yacón blanco y morado.....	39
Tabla 6.- Contenido de vitamina C de hojas y raíces de yacón blanco y morado.....	39
Tabla 7. Contenido de antocianinas de las hojas y raíces del yacón.....	40

R E S U M E N

Los antioxidantes son esencialmente importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo.

Objetivos: determinar la capacidad antioxidante de la raíz y hojas frescas de yacón "*Smallanthus sonchifolia*", variedades blanca y morada, en sus variedades blanco y morado. **Diseño de investigación:** Analítico, experimental, prospectivo y de corte longitudinal. **Metodología:** Se procedió a realizar un extracto acuoso al 25% con las raíces y hojas frescas del Yacón y al sobrenadante se le determinó la capacidad antioxidante mediante los métodos de DPPH⁺, ABTS⁺, FRAP y frente al Sistema Ascorbato/Cu-II; además, se determinó la concentración de Polifenoles, Vitamina C, Flavonoides, y Antocianinas. **Resultados:** En relación con el comportamiento del yacón frente al radical ABTS⁺ pudo apreciarse que los menores valores Cl₅₀ correspondieron a la hoja morada y a la raíz morada, muestras que tuvieron valores de 4.75mg/mL y 5.38 mg/mL respectivamente, así mismo, la hoja blanca y la raíz blanca mostraron valores Cl₅₀ de 7.0 mg/mL y 10.0 mg/mL respectivamente, correspondiendo de esta manera la mayor eficacia antioxidante a la hoja morada. Las mayores concentraciones de Polifenoles, Vitamina C, Flavonoides, y Antocianinas se encontraron en: Polifenoles, Hoja Blanca 88.98 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra; Flavonoides, Hoja Blanca 48.23 mg equivalentes de catequina/100 g de muestra; Vitamina C, Hoja Blanca 26.54 mg/100 g de muestra; Antocianinas, Raíz Morada μmoles/100 g muestra. **Conclusiones:** Las hojas de yacón blanco muestran los mayores contenidos de polifenoles, flavonoides y vitamina C. Las hojas y la raíz de yacón morado presentaron el más elevado contenido de antocianinas. La mayor capacidad antioxidante evaluada con la técnica FRAP correspondió a la hoja de yacón blanco. Las hojas de yacón morado ejercieron la mayor capacidad para captar el radical ABTS⁺. No se observó diferencia alguna con respecto a la captación del radical DPPH⁺ por las hojas y raíces de los dos tipos de yacón: blanco y morado.

Palabras Clave: Antioxidante, Radicales Libres, Yacón, Polifenoles, Flavonoides, Antocianinas, Vitamina C.

S U M M A R Y

Antioxidants are essentially important to the Agency by the capacity to protect against oxidative damage to biological macromolecules. **Objectives:** determine the antioxidant of the root and fresh yacon leaves "S " *mallanthus* " *ramburei*" purple and white varieties, in its white and purple varieties. **Design research:** Analytical experimental, prospective and longitudinal cut. **Methodology:** He proceeded to perform a water extract 25% fresh Yacon leaves and roots and to the supernatant found the antioxidant capacity using ABTS⁺, DPPH, FRAP and front of the ascorbate/Cu-II system methods; In addition, found the concentration of polyphenols, vitamin C, flavonoids and anthocyanins. **Results:** In relation to the behavior of the yacon against the radical ABTS⁺ could see that minors values CI₅₀ corresponded to the purple leaf and the purple root samples that had values of 4.75 mg/mL and 5.38 mg/mL respectively, likewise, the white sheet and the white root showed values CI 7.0₅₀ mg/mL and 10.0 mg/mL respectively corresponding antioxidant efficiency in this way to the purple leaf; The highest concentrations of polyphenols, vitamin C, flavonoids and anthocyanins found in: polyphenols, blade white 88.98 mg equivalent of acid Gallic/100 g of sample; Flavonoids, blade white 48.23 equivalent mg of catechin/100 g of sample; Vitamin C, blade white 26.54 mg / 100 g sample. Anthocyanins, purple root µg moles/100 shows. **Conclusions:** The white yacon leaves show higher levels of polyphenols, flavonoids and vitamin C. The leaves and the root of yacon purple presented the highest anthocyanin content. The highest antioxidant capacity evaluated with the FRAP technique corresponded to the white yacon leaf. Purple yacon leaves exerted the greatest capacity to capture the radical ABTS⁺. There was no difference with regard to the recruitment of the radical DPPH⁺ by the leaves and roots of the two types of yacon: white and purple.

Keywords: Antioxidant, free radical, Yacon, polyphenols, flavonoids, anthocyanins, vitamin C.

CPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes reciben especial atención debido al rol que tienen en la prevención o disminución de los procesos de enfermedades como el cáncer, enfermedades coronarias, respiratorias, inflamatorias, neurológicas, parkinson, artritis, y envejecimiento del ser humano Gil A. Dolores M, et al. (1998), Jimenes T. (2000).

Los radicales libres están implicados en la causa de estas enfermedades por ocasionar daño oxidativo a compuestos químicos tales como: ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos libres, lípidos y lipoproteínas, carbohidratos y macromoléculas del tejido conectivo, Gil A, et al (1998). Es por esto que los antioxidantes, los cuales neutralizan la acción de los radicales libres, desempeñan una función fundamental en la prevención de enfermedades), Mora R. (2002).

Los antioxidantes son esencialmente importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo, Gil A, et al (1998). Entre los más conocidos son: los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides (quercitina, robinutina, luteolina, kaempferol, naringenina, catequinas, entre otros), antocianinas, carotenoides, ácidos fenólicos (ácidos cafeico, ferúlico, gálico, clorogénico) O. P. S., (1997).

Los radicales libres producen daño a diferentes niveles en la célula; Atacan a los lípidos y proteínas de la membrana celular por lo que la célula no puede realizar sus funciones vitales (transporte de nutrientes, eliminación de desechos, división celular) . El radical superóxido, O_2^- , que se encuentra normalmente en el metabolismo provoca una reacción en cadena de la lipoperoxidación de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular. Atacan al DNA impidiendo que tenga lugar la replicación celular y Contribuyendo al envejecimiento celular. Guija E. Troncoso L., (2000).

Objetivos:

Objetivo General:

Determinar la capacidad antioxidante de la raíz y hojas frescas de yacón "*Smallanthus sonchifolia*", en sus variedades blanco y morado.

Objetivos Específicos:

1. Determinar la capacidad antioxidante total de la raíz y hojas frescas de yacón "*Smallanthus sonchifolia*", en sus variedades blanco y morado.
2. Determinar el contenido de los componentes antioxidantes de la raíz y hojas frescas de yacón "*Smallanthus sonchifolia*", en sus variedades blanco y morado.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

Los radicales libres de oxígeno son compuestos químicos, caracterizados por poseer uno o más electrones desapareados, algunos de ellos son extremadamente reactivos, como el radical hidroxilo (OH^{\bullet}), otros menos reactivos como el radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que por definición no es considerado un radical libre de oxígeno pero es potencialmente capaz de generar fácilmente (OH^{\bullet}). Cascales M., (1997). Los radicales libres pueden formarse intracelularmente en los peroxisomas, en la cadena transportadora de electrones, durante la fagocitosis, la autooxidación, o como consecuencia de la interacción de metales de transición como el hierro o cobre con ascorbato o peróxido de hidrógeno Freeman y Grapo. (1982). Valenzuela A. Videla L. (1989). Ciertos compuestos químicos ingeridos en la dieta, diversas sustancias tóxicas (humo de cigarrillo), pesticidas, solventes, drogas, bebidas alcohólicas, contaminación ambiental, radiación ionizante ultravioleta, radiaciones electromagnéticas, ozono y algunos medicamentos (paracetamol), pueden ejercer acción nociva en el organismo a través de la generación de radicales libres, Halliwell B, et al., (1984).

La función de estos radicales libres es oxidar las macromoléculas captando electrones para así quedar ellos mismos estables, con sus electrones apareados, en un proceso oxidativo que constituye una propagación en cadena y que es dañina Halliwell B. et al., (1984).

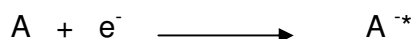
Existen fundamentalmente 3 formas distintas que permiten la generación de radicales libres: Mediante ruptura hemolítica; proceso en que el enlace covalente se escinde, de tal manera que cada uno de los productos retiene un electrón. Para que esta reacción ocurra es necesaria una fuente elevada de energía o radiación ionizante:



Mediante la pérdida de un electrón.- En este caso el compuesto químico pierde un electrón quedando cargado positivamente y con un electrón desapareado:



Por ganancia de un electrón.- Constituye el proceso más frecuente en las reacciones biológicas y no requiere de una fuente de alta energía.



Conforme se observa, los radicales libres pueden tener carga eléctrica negativa, positiva o ser eléctricamente neutros, tal como sucede con el oxígeno, elemento que pese a ser un bi radical reacciona muy lentamente con compuestos no radicales; en cambio , reacciona fácilmente con otros radicales libres Proctor P. Reynolds E., (1984).

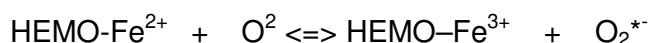
Cuando un electrón reduce la molécula de oxígeno, se produce el ion $O_2^{\cdot -}$. Esta especie química es muy reactiva. El $O_2^{\cdot -}$ es muy inestable en soluciones acuosas, y reacciona consigo mismo para producir H_2O_2 y oxígeno molecular (O_2) mediante una reacción de dismutación. La forma protonada del $O_2^{\cdot -}$, es el radical perhidroxilo (HO_2^{\cdot}). Si son dos los electrones que se incorporan a la molécula de oxígeno, se forma el ion peróxido (O_2^{2-}),

cuya forma protonada es el peróxido de hidrogeno. Este compuesto es peligroso para las células porque es un potente oxidante que atraviesa fácilmente las membranas biológicas y porque, a partir de él, se puede originar el radical OH^{\bullet} , Valenzuela A. Videla L., (1989).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se producen continuamente en los sistemas biológicos. Muchos de ellos son productos intermedios en diferentes reacciones enzimáticas y algunas resultan beneficiosas para el organismo. Así tenemos que NADPH oxidasa y la mieloperoxidasa están implicados en la destrucción fagocítica de bacterias mediante la producción de $\text{O}_2^{\bullet-}$, OH^{\bullet} y oxígeno singlete. Sin embargo cuando hay una hiperproducción de estos radicales libres, o cuando los sistemas antioxidantes están deteriorados, estas especies tan reactivas provocan graves daños celulares. Turrens J., (1994).

Diferentes moléculas citoplasmáticas pueden producir ROS, cuando se autooxidan. En todos los casos se produce como radical primario el $\text{O}_2^{\bullet-}$ que, por una reacción de dismutación espontánea o enzimática, puede dar lugar a H_2O_2 . Cuando estas moléculas oxidadas se vuelven a reducir, se establece un ciclo redox que puede implicar un consumo desproporcionado de oxígeno molecular y equivalentes redox. Entre estas moléculas se encuentran iones divalentes, tioles, quinonas, catecolaminas, tetrahidropterinas y flavinas. Valenzuela A. Videla L., (1989).

La oxidación de la hemoglobina y mioglobina puede producir radicales libres de oxígeno. Céspedes M, Ela M., (1996). El hierro de la hemoglobina y de la mioglobina, cuando se liga O_2 esta normalmente en la forma ferrosa, pero existe una cierta deslocalización electrónica, de manera que se produce el equilibrio siguiente:



Es posible que las moléculas de hemoglobina oxidada se descomponga y de lugar a $\text{O}_2^{\bullet-}$ y hemo $-\text{Fe(III)}$. En ese punto, la hemoglobina, ya metahemoglobina, no puede transportar oxígeno.

Normalmente, sólo una baja proporción de oxihemoglobina es transformada en metahemoglobina debido a la acción de la metahemoglobina reductasa Halliwell B. Gutteridge J., (1984).

Diversas enzimas generan ROS durante sus ciclos catalíticos. Entre ellas se encuentran la dihidroorotato deshidrogenasa, la triptofano dioxigenasa, la aldehído oxidasa, la monoaminooxidasa, la xantina oxidasa, la óxido nítrico sintasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa y la NADPH oxidasa. En algunos casos los radicales libres que se forman inactivan las enzimas que las originan y, de esta forma, regulan la ruta metabólica en la que participan Southorn P. Powis G., (1988). Greene E. Paller M., (1992).

Se ha comprobado que los compuestos que estimulan la proliferación de los peroxisomas inducen al estrés oxidativo. Estos tienen una gran capacidad para producir H_2O_2 debido a la elevada concentración de oxidasas que contienen, Así tenemos: las L-y D- aminoácido oxidasas, la glicolato oxidasa o la urato oxidasa. Estas enzimas catalizan la reducción divalente del O_2 sin formación del radical superóxido. La oxidación peroxisómica de ácidos grasos también generan H_2O_2 , como subproducto Greene E. Paller M., (1992).

El sistema de transporte electrónico mitocondrial es la principal fuente de $O_2^{\bullet-}$. La citocromo oxidasa cataliza la reducción del oxígeno, molécula con cuatro electrones y cuatro protones para dar dos moléculas de agua. El diseño molecular de este complejo proteico impide la liberación de ROS. Sin embargo, cuando la cadena respiratoria está muy reducida y la concentración de ADP es limitante, otros componentes de la cadena respiratoria sí pueden perder electrones durante su transferencia y generar $O_2^{\bullet-}$. La formación de radicales libres de oxígeno durante el transporte electrónico mitocondrial se ve favorecida por elevadas concentraciones de oxígeno, Cadenas E., (1997).

Las fracciones microsomales liberan $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 cuando se incuban con NADPH. El denominado citocromo P450 es, en realidad un conjunto de citocromos localizados en el retículo endoplasmático y otros organelos.

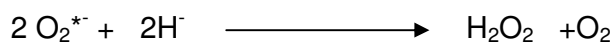
Estos citocromos están implicados en la oxidación de sustratos a expensas de O_2 , uno de cuyos átomos se une al sustrato y el otro forma agua. En la reacción se requiere poder reductor que normalmente es aportado por el NADPH a través de una flavoproteína denominada NADPH citocromo P450 reductasa. Cuando se desacopla el ciclo catalítico del citocromo P450, el flujo de electrones se desvía al O_2 , que se convierte en $O_2^{\bullet-}$ en lugar de unirse al sustrato. La autooxidación de la NADPH – citocromo P450 reductasa también puede originar $O_2^{\bullet-}$ Demple B. Linn S., (1982). El citocromo b5 es una hemoproteína del sistema de transporte electrónico microsomal responsable de la introducción de dobles enlaces en los ácidos grasos. Los electrones se transfieren desde el NADH o NADPH al citocromo b5, por una flavoproteína reductasa y el citocromo b5, a su vez, los cede a la desaturasa. Finalmente esta proteína oxida al ácido graso con O_2 y forma agua. Por causas desconocidas es posible que el citocromo b5 y la flavoproteína cedan electrones al O_2 y se genera $O_2^{\bullet-}$. Halliwell B. Gutteridge J., (1984).

Los carbohidratos como las proteínas y los lípidos de la dieta se metabolizan intracelularmente, transformándose en compuestos intermedios que finalmente se catabolizan en el ciclo de Krebs, transfiriéndose los electrones de dichos metabolitos a los componentes de la cadena transportadora de electrones, los que finalmente son conducidos hasta el oxígeno. La reducción intramitocondrial del oxígeno se realiza mediante la autooxidación de la ubisemiquinona que está ligada a la proteína que se une a quinona, reacción denominada también de Boveris-Cadenas, que es responsable de aproximadamente 75% de la formación mitocondrial del anión superóxido, mientras que el 25% restante ocurriría mediante la autooxidación de la semiquinona de la flavoproteína de la NADH-Deshidrogenasa o reacción de Boveris –Turrens.

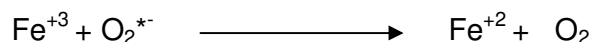


El radical $O_2^{\bullet-}$ generado en la matriz mitocondrial, no puede abandonar la mitocondria debido a que la membrana interna de esta es impermeable al anión superóxido. Dicho radical, no es un radical libre

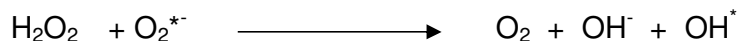
particularmente dañino ya que tiene una limitada reactividad; en tal sentido, no reacciona con macromoléculas, pero constituye una importante fuente de formación de H_2O_2 , OH^* y radical perhidroxilo. Tiene la propiedad de protonarse a bajos valores de pH, encontrándose bajo esta forma no más del 1% a pH fisiológico. El anión superóxido puede comportarse como oxidante o reductor; su concentración intramitocondrial se ha calculado en $8 \times 10^{-12} \text{M}$ convirtiéndose la mayor parte en peróxido de hidrogeno. Debido a que su pKa es 4.7 la velocidad de la reacción de dismutación espontánea se torna más rápida a medida que se incrementa el pH siendo el valor de la constante de velocidad a pH 7.4 de $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, en cambio, la reacción catalizada por la Mn – superóxido dismutasa (Mn- SOD) muestra una constante de velocidad de $2 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, proceso que se realiza a través de la siguiente reacción:



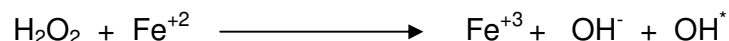
Siendo su potencial redox estándar de -0.16 V, puede reducir diversos compuestos férricos y cúpricos, formando Fe (II) y Cu (I) no oxida al NADH ni al NADPH; en cambio, puede oxidar al ascorbato, tocoferoles, tioles y catecolaminas.



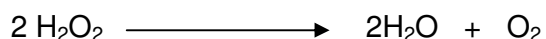
Cuando reacciona con el H_2O_2 genera el radical OH^* , a través de la reacción de Haber-Weiss:



El peróxido de hidrógeno, formado mediante la reacción de dismutación antes citada, no es propiamente un radical libre, pero se encuentra estrechamente vinculado a las diversas ROS, debido a que pueden generar radicales altamente reactivos cuando reaccionan con metales de transición como Fe (II) o Cu (I), a través de la reacción de Fenton.

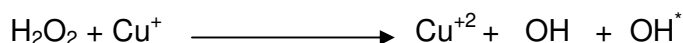


La catalasa es una enzima que tiene la propiedad de descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, mediante la reacción siguiente:



El peróxido de hidrógeno no es suficiente reactivo para oxidar moléculas orgánicas; su importancia radica en la facilidad que tiene para difundir a través de membrana y su capacidad para generar radicales libres cuando reaccionan con metales de transición. De esta manera, es posible impedir la formación del radical hidroxilo, ya sea por acción de la superóxido dismutasa, que convierte el anión superóxido en H_2O_2 y O_2 , o por la participación de la catalasa que transforma el peróxido de hidrogeno en H_2O y O_2 . Halliwell B. Gutteridge J., (1984).

El radical OH^* es un radical oxidante altamente reactivo y poco selectivo, cuya vida media es muy corta ($1 \times 10^{-9}\text{s}$) pudiendo dañar proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos y, conforme se ha descrito, puede formarse ya sea mediante la reacción de Fenton o la de Haber – Weiss. Este radical libre también puede generarse de acuerdo a la siguiente reacción:



El oxígeno que el ser humano inhala, es reducido de una manera univalente a nivel mitocondrial formando el anión superóxido, el que por acción de la SOD formaría peróxido de hidrógeno: paralelamente reaccionaría con el Fe (III) para formar Fe (II), el que al reaccionar con el peróxido de hidrógeno originaría el radical hidroxilo, que es altamente reactivo. Las 2 reacciones anteriores constituyen la conocida reacción de Haber- Weiss-Fenton.

El óxido nítrico (NO^*) es otro de los radicales libres que es sintetizado en el organismo por la óxido nítrico sintetasa (NOS) a partir de arginina y NADPH. El NO^* , puede reaccionar con el O_2^{*-} y formar el peroxinitrito (ONOO^-), compuesto que tiene la propiedad de oxidar ácidos grasos y generar el radical OH^* . El ácido conjugado del ONOO^- , es el ácido peroxinitroso (HOONO), potente oxidante que tiene la capacidad de

transferir un átomo de oxígeno a la metionina mediante una reacción de tipo S_N2 y formar la metionina sulfóxido, Avello M., (2006). Guija E. Troncoso L., (2000).

La membrana nuclear y microsomal contiene sistemas transportadores de electrones en los que intervienen el citocromo P-450 y el citocromo b_5 . Se ha observado a nivel microsomal la producción del anión superóxido y del peróxido de hidrógeno durante la oxidación del NADPH; así mismo, se ha descrito que los cambios que ocurren en los estados de las isoenzimas del citocromo P-450 influyen en la formación de radicales libres. Las oxidasas de función mixta presentes en el retículo endoplasmático, catalizan la transferencia de electrones a partir de NADH o NADPH; por lo tanto, la presencia de xenobióticos o una alteración en el proceso normal puede producir una incrementada generación de radicales libres Fraga C. Shigenaga M. Park J. Degan P. (1990).

La isquemia es un proceso caracterizado por un aporte insuficiente de oxígeno a un tejido, que puede ocurrir como consecuencia de una obstrucción, como en la tromboembolia o en la aterosclerosis, asimismo, puede producirse durante una intervención quirúrgica (transplante de órgano, by pass de arteria coronaria, entre otros). Si no se restaura el flujo de oxígeno, el tejido puede necrosarse, por cuyo motivo, la reperfusion es necesaria; pero al haberse modificado diversas vías metabólicas, se inicia un proceso de degradación de los metabolitos, tal como el ATP, que es degradado sucesivamente a ADP, AMP \longrightarrow Hipoxantina. Este último compuesto, por acción de la xantina oxidasa, formará el anión superóxido. Carrizo P. Dubin M. Stoppani., (1998).

Por otro lado, las plaquetas, como parte de la respuesta a ciertos estímulos, sintetiza el tromboxano A_2 , proceso que se realiza a partir del araquidonato liberado de las moléculas de lecitina que se encuentra formando parte de la membrana; previamente el araquidonato, por acción de la prostaglandina G/H sintetasa, forma la prostaglandina H, reacción en la que se genera el radical superóxido.

Cuando los fagocitos (eosinófilos, neutrófilos) son expuestos a un determinado estímulo, se desarrolla una serie de reacciones coordinadas caracterizadas por un rápido consumo de oxígeno denominado “estallido respiratorio”, que es utilizado por estas células para generar radicales libres destinados a eliminar microorganismos, Bellavite P., (1988). En esta reacción participa el complejo NADPH oxidasa, dos proteínas citosólicas p47 y p67, fosfolipasas C Y D, ácidos grasos insaturados y GTP. La formación del anión superóxido se realiza durante la fagocitosis, habiéndose sugerido que la transferencia de electrones del NADPH al oxígeno ocurriría con la participación de una mini cadena transportadora de electrones constituida por una flavoproteína y un citocromo. El anión superóxido es transformado en peróxido de hidrógeno por acción de la SOD y, posteriormente, la mieloperoxidasa (MPO), constituyente del sistema halógeno- H_2O_2 - MPO, cataliza la reacción del H_2O_2 con halógenos (Cl^-) y produce iones hipoclorosos que son utilizados para eliminar microorganismos, Morel F. Doussiere J. Vignais P., (1991).

La mayor parte de los componentes celulares puede ser dañada por las ROS, pero las proteínas, los ácidos grasos insaturados, los ácidos nucleicos y los hidratos de carbono resultan ser los blancos fundamentales de las reacciones de estas especies. Cuando los radicales libres de oxígeno reaccionan con esas moléculas la estructura de las mismas se alteran y, como consecuencia de ello, también el correcto funcionamiento de la célula; como se describe a continuación:

Las proteínas pueden ser dañadas por las especies reactivas de oxígeno (ROS) de varias formas, como en el caso del estado redox de los ligandos metálicos de muchas metaloproteínas que puede ser modificado al reaccionar con las ROS. Los radicales libres pueden reaccionar con aminoácidos que contengan grupos insaturados o azufre. De esta manera, las proteínas con elevada proporción de fenilalanina, histidina, tirosina, triptofano, cisteína o metionina son más susceptibles al ataque de las ROS. Se ha comprobado que enzimas tales como la gliceraldeido-3-fosfato deshidrogenasa, la papaína o la superóxido dismutasa, cuya actividad

dependen de estos aminoácidos, se inhiben en presencia de ciertos radicales libres. Las reacciones de los radicales libres con todos estos aminoácidos dan lugar a alteraciones estructurales en las proteínas provocando entrecruzamientos y fenómenos de agregación que se ven favorecidos por la formación de puentes disulfuro intra e intermoleculares, Fraga C. Shigenaga M. Park J. Degan P., (1990.).

Los enlaces peptídicos pueden ser dañados por las ROS. Estos enlaces se rompen después de la oxidación de residuos de prolina por radicales hidroxilo o superóxido Bellavite P., (1988). La reacción de las ROS con las proteínas también puede generar sub productos que amplifiquen el daño inicial. Como cuando el triptófano se oxida hasta H_2O_2 y N-formilquinurenina, este compuesto reacciona con algunos grupos amino y provoca entrecruzamiento entre proteínas, lípidos o ambos Bellavite P., (1988).

Los radicales libres pueden dañar al Ácido desoxirribonucleico (ADN), produciendo fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes, Simpson J. Narita S. Giese S. y Dean R., (1992).

El daño se puede realizar por la alteración en la inactivación o pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis, Roche E. (1994). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN, Oteiza P., (1995).

Cuando un radical libre reacciona con un compuesto no radical, se puede formar un nuevo radical libre que puede reaccionar a su vez con otro compuesto no radical y así sucesivamente. De esta manera es posible que se creen reacciones en cadena que darán lugar a efectos biológicos

negativos en el lugar donde se generó o lejos de dicho lugar, como en la peroxidación lipídica.

En los lípidos es donde se produce el daño mayor, en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce edema y muerte celular, Jerlick A. Pitt A. Schaur R. Spickett C. (2000). La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singulete, el H_2O_2 y el OH^{\bullet} . Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno. Reylli P. Burkley G., (1990).

Los factores que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica son, la naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador, los contenidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad, la tensión de oxígeno, la presencia de hierro, el contenido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión), la activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa (GSH-Prx). Roche E., (1994).

Los radicales libres hidróxilo, hiperhidroxilo y el oxígeno singulete pueden reaccionar con los ácidos grasos de los fosfolípidos y otros componentes lipídicos de las membranas para formar hidroperóxidos lipídicos. Este proceso de peroxidación lipídica comienza cuando el radical libre quita un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metileno de la cadena hidrocarbonada para originar un radical libre lipídico. Jialal I, Grurdy S., (1992). Los ácidos grasos poliinsaturados son especialmente susceptibles al ataque de los radicales libres, puesto que contienen grupos metileno separados por dobles enlaces que debilita el enlace metileno C-H. El radical libre lipídico para estabilizarse sufre un reajuste molecular que produce un dieno conjugado. El dieno conjugado reacciona con el oxígeno molecular y se forma un radical peróxilo que puede dar lugar a

endoperóxidos o bien tomar un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado adyacente y formar, de nuevo, un radical libre lipídico y un hidroperóxido. Así se establece una cadena de propagación del daño peroxidativo. Los hidroperóxidos lipídicos son compuestos estables, pero si entran en contacto con iones metálicos de transición, producen más radicales libres que pueden iniciar y propagar otras reacciones en cadena. De esta manera, se altera la estructura de las membranas y, por tanto su función. Los productos finales de la peroxidación lipídica entre los que se incluyen hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos, pueden difundir lejos del lugar donde se originaron y alterar la permeabilidad vascular, la respuesta inflamatoria o la quimiotaxis. Aikens J. Dix T., (1991).

El malondialdehído, otro producto final de la peroxidación de los ácidos grasos, pueden causar entrecruzamiento y polimerización entre los distintos componentes de las membranas, así como reaccionar con las bases nitrogenadas del ADN. Harman D., (1992).

Gran parte de la citotoxicidad de las ROS es una consecuencia de las aberraciones cromosómicas producidas por las modificaciones químicas que sufren las bases y los azúcares del ADN al reaccionar con esas especies. Higuchi Y. Linn S., (1995). Estas modificaciones químicas provocan reacciones de entrecruzamiento y en muchos casos, la ruptura de las hebras del ADN. Si el daño que se origina es tan grande que no puede ser reparado, entonces se produce una mutación, o muere la célula. Demple B. Linn S., (1982).

Los hidratos de carbono son dañados por las ROS, en menor proporción que otras moléculas. Monosacáridos tales como la glucosa, el manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con el OH^* para producir sustancias reactivas. Los polisacáridos también pueden sufrir el ataque de las ROS, en este caso fragmentándose para dar unidades más sencillas. Cascales M., (1997).

Existen muchas posibilidades de actuación de las ROS en la compleja red de mecanismos bioquímicos que enlazan las señales extracelulares con la síntesis de proteínas específicas: receptores, proteínas transductoras, proteína cinasas, factores de transcripción. Muchas de estas proteínas son susceptibles de regulación por el equilibrio redox, especialmente, los residuos de cisteína.

La proteína cinasa C (PKC) cataliza una etapa inicial en la cascada de señales que regulan procesos celulares como la proliferación, la adhesión, la apoptosis, la angiogénesis, la invasión y las metástasis. Concertadamente, esta enzima modula la proliferación celular a través de la activación de las llamadas MAP cinasas (proteína cinasas activadas por mitógenos) resulta evidente por tanto, que la activación de la PKC por las ROS puede resultar decisiva en la promoción y la progresión de tumores. Así mismo, esta activación puede ser relevante en la estimulación de la proliferación de las células de musculo liso durante el proceso aterosclerótico. Oliva M. et al., (1997).

Está bien establecido que las etapas de inicio de la carcinogénesis esta mediada en muchos casos por reacciones químicas de oxidación sobre el DNA. Las ROS pueden originar, por ejemplo mutaciones en oncogenes que estimulen excesivamente la proliferación celular, Yu B., (1994). Pero para el desarrollo neoplásico se suele necesitar además, que las células iniciadas sufran un proceso de promoción, es decir, que reciban un estímulo a su proliferación selectiva sobre las demás células no iniciadas. Este proceso de promoción lo pueden realizar compuestos diversos (alcohol, cloruro sódico, hormonas, entre otros) por mecanismos no siempre bien conocidos, pero considerados generalmente como no oxidativos, al contrario de lo que ocurre con los factores iniciadores.

El organismo dispone de sistemas de defensa antioxidante que actúan impidiendo la formación de radicales libres, bloqueando su propagación o interaccionando directamente con ellos, Gutteridge J., (1994).

El sistema de defensa antioxidante está constituido por antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Entre los enzimáticos se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y GSH peroxidasa. Los antioxidantes no enzimáticos pueden ser exógenos, los que provienen de la dieta, o endógenos los que se forman en el organismo. Entre los que provienen de la dieta se encuentran las vitaminas antioxidantes, A,E,C y beta caroteno y los flavonoides, principalmente; y entre los endógenos tenemos al glutatión reducido (GSH) que es el más abundante, a la albumina, transferrina, ferritina, ceruloplasmina, ácido úrico, entre otros, Urquiaga I., (1999).

Las enzimas SOD, CAT y GSH peroxidasa reducen al mínimo la exposición a los ROS. Enzimas auxiliares, a través de la biosíntesis de glutatión (GSH) o del ciclo del GSH reducido, contribuyen a regenerar GSH a partir del glutatión oxidado (GSSG), lo que es esencial incluso para la defensa contra el estrés oxidativo leve, Meister A. Anderson M. (1983). Vitaminas antioxidantes como el tocoferol, producen un mecanismo de inhibición de reacciones iniciadas por OH^{\bullet} , Galan P. Mariani E. Hercberg S., (1997). El GSH es el antioxidante no enzimático más abundante en la célula, y el único antioxidante que elimina $\text{O}_2^{\bullet-}$ y OH^{\bullet} , sirve como sustrato para formar GSH peroxidasa y desempeña un importante papel en la defensa contra la lesión celular provocada por el estrés oxidativo, Glatthaar B. Horning D. Moser U., (1986). El ascorbato desempeña, asimismo, un importante papel en la reducción del radical tocoferoxilo, transformándolo en tocoferol, así como en la eliminación de $\text{O}_2^{\bullet-}$ y otros radicales libres, Steinberg D., (2000); Thomas S. Stocker R., (2000).

Actualmente, el estudio de las plantas medicinales está cobrando una gran importancia debido al extraordinario potencial que encierran como fuente de principios activos, Russo A. Acquaviva R. Campisi A. (2000). Los flavonoides, se encuentran dentro de estos principios de origen natural cuyas propiedades están siendo revisadas, entre las que se encuentran su poder antiinflamatorio y antioxidante, Ferrandiz M. Alcaraz M., (1991).

Los flavonoides están constituidos por compuestos fenólicos caracterizados por ostentar un grupo cromano unido a carbohidratos (glucosa, galactosa, rafinosa, y otros); un gran número de ellos son coloreados y se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y en las verduras, como son los ajos, cebolla, cerezas, melocotones, manzana, apio, perejil, limón, naranja, y otros; además, en el té y el vino tinto, Groot H. Rauen U., (1998). Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da. Vinnson J., (1998).

La capacidad antioxidante de los flavonoides radica en parte a su acción inhibitoria sobre ciertas enzimas; proteína quinasa C, lipoxigenasa, aldolasa reductasa, xantino oxidasa, mieloperoxidasa y NADH oxidasa; este efecto depende del tipo de flavonoides y de la naturaleza de la enzima Bravo L. (1998), en tal sentido, existen flavonoides que inhiben xantino oxidasa a través de una inhibición de tipo competitiva; también, es posible, que la acción pueda ejercerla de una manera indirecta, tal como sucede con la inhibición de la NADPH oxidasa de los granulocitos, lo cual se produce al inhibirse la acción catalítica de las protein quinasas por acción de los flavonoides, lo que impide finalmente, la activación de esta enzima, Bohm H. Boeing H. Hempel J., (1998).

Los flavonoides también pueden ejercer su acción antioxidante al reaccionar directamente con los radicales hidroxilo y superóxido. Bohm H. Boeing H. Hempel J., (1998); así como interactuar con LOO^{\cdot} y NO^{\cdot} , efecto que se realiza gracias a la presencia de grupos fenólicos en su estructura; adicionalmente, tiene la propiedad de reducir a los iones férricos y cúpricos. Hirono I., (1987). Poseen propiedades antioxidantes Pietta P. (2000), antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales, antiasmáticas e inhibitoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ornitina decarboxilasa, hexoquinasa, aldolasa, reductasa, fosfolipasa C y topoisomerasa II. Rahman A. Shahabuddin S. Hadi S. Parish J., (1989).

Los flavonoides resultan de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL). Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO) , Lindahl M. Tagesson C. (1997).), evitando la generación de ROS *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Sudheesh S. Sandhya C. Sarah K., (1999). Por otra parte, también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A₂ (FLA₂), al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, como la CAT y la SOD, Groot H. Rauen U., (1998). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de RL y en la formación del radical en sí. Truba P. Márquez H. Martinez S., (1997).

La inhibición sobre determinadas oxidasas representa otro de los mecanismos a través de los cuales los flavonoides ejercen sus actividades antioxidantes.

Los flavonoides aislados de la *Solanum melongena*, ejercieron una potente actividad antioxidante, elevando, de manera significativa ($p < 0,01$), los niveles de GSH y la actividad de la CAT en ratas, luego de la administración intraperitoneal de 1 mg de flavonoides del Brinjal/100 g de peso corporal/ d Truba P. Marquez H. Martinez S., (1997).

Según Araya H. 2006, determinó la capacidad antioxidante de alimentos vegetales cultivados en Chile, se analizaron frutas y verduras naturales según el método FRAP (ferric reducing activity power). En las verduras se observaron valores, expresados en base húmeda, comprendidos entre 0,002 y 1,91 milimoles de Fe/100g para zanahoria cocida y ají rojo respectivamente. Los valores de las frutas estuvieron comprendidos entre 0,02 milimoles de Fe/100g para el pepino hasta 12,32 para el maqui, destacando el alto valor de este último y los obtenidos en los berries: frutilla 3,10 y zarzamora 3,55. En la zona intermedia se ubicaron frutos como el limón y el membrillo con 0,25 y 0,23 respectivamente; los valores más bajos

dentro de las frutas correspondieron a manzana (variedad fuji) y duraznos. Araya H. Clavijo C. Herrera C., (2006).

Se publican cada vez en mayor número nuevas investigaciones que asocian el consumo de frutas con efectos beneficiosos para la salud humana. Se determinó la capacidad antioxidante de las pulpas de frutos tropicales de mayor consumo en el mercado del sur de Brazil: mora, uva, açai, guayaba, fresa, acerola, piña, mango, graviola, cupuaçu y maracuyá; los que presentaron mayor capacidad antioxidante son los frutos de la acerola y el mango. A los compuestos fenólicos y los antocianinas se atribuyen esta capacidad antioxidante. Kuskoski M. Asuero A. Mancini J. Fett R., (2005).

La cantidad de antocianinas totales en las pulpas de mora, uva, fresa, açai, acerola y guayaba es de 41,8; 30,9; 23,7; 22,8; 16,0 y 2,7 mg/100 g peso fresco, respectivamente; la mora y la uva presentan el mayor contenido de antocianinas y las pulpas de acerola y guayaba el menor contenido, mientras que piña, mango, graviola, cupuaçu y maracuyá no lo contienen. Los extractos de pulpa de acerola contienen un elevado contenido de polifenoles totales (580,1 mg/100 g) al igual que la pulpa de mango (544, 9 mg/100 g), mientras que las pulpas de açai (136,8 mg/100 g), fresa (132,1 mg/100 g), mora (118,9 mg/100 g) y uva (117,1 mg/100 g) muestran contenidos más bajos, aunque también existen contenidos elevados. Kuskoski M. Asuero A. Mancini J. Fett R., (2005).

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas.

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en

las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-coumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Miyazawa T. Nakagawa K. Kudo M. Muraishi K. Someya K., (1999).

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatorios y antidiabéticos; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo. Los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante. Estudios con fracciones de antocianinas provenientes del vino han demostrado que estas son efectivas en atrapar especies reactivas del oxígeno, además de inhibir la oxidación de lipoproteínas y la agregación de plaquetas. De igual manera Wang y Jiao (2000) y Wang y Lin., (2000) han demostrado que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra radicales peróxido, ($ROO\cdot$), $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} y oxígeno singulete.

A las antocianinas también se les atribuye actividad antitumoral y anticancerígena Hagiwara et al (2002), demostraron que el suministro de papas púrpuras dulces y repollo morado a ratas de laboratorio, causan supresión de tumores Hagiwara A. Yoshino H. Ichihara T. Kawabe M. Tamano S. Aoki H. et al., (2002). Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (phip)-associated colorectal carcinogenesis in rats. J Toxicol Sci;27:57-68.

De igual manera Koide et al. (1997), reportaron efectos antitumorales al usar extractos de frijoles rojos de soya que contenían cianidina conjugada con glucosa y raminosa Koide T. Kamei H. Hashimoto Y. Kojima T. Hasegawa M., (1997). En cuanto a la actividad anticancerígena, Kamei et al., (1998), reportaron la supresión de células cancerígenas HCT-15 provenientes del colon humano y de células cancerígenas gástricas AGS al suministrar fracciones de antocianinas del vino tinto (80). Así también, Tristan et al., (2005), realizaron bioensayos que demuestran que los arándanos inhiben las etapas de iniciación, promoción y progresión de la carcinogénesis Tristan F. Kraft B. Schmidt B. Yousef G. Knigh C. Cuendet M. et al., (2005).

Referente a la actividad antiinflamatoria, Wang y Mazza., (2002), encontraron en extractos concentrados de antocianinas efecto inhibitorio de la producción de óxido nítrico en macrófagos activados. Por otra parte, Vuorela, et al., 2005, encontraron efecto supresor de prostaglandina EG2, sinónimo de actividad antiinflamatoria en extractos de antocianinas de frambuesa.

De acuerdo a Tristan et al., (2008), antocianinas provenientes de cuatro especies de arándanos silvestres: *Amelanchier alnifolia*, *Viburnum trilobum*, *Prunus virginian* y *Shepherdia argentea*, muestran propiedades hypoglicémicas. Tales frutos, con alto contenido de sustancias fitoquímicas, han sido consumidas tradicionalmente por tribus norteamericanas para la protección de enfermedades crónicas como diabetes, Tristan F. Moul D. Rogers R. Ribnick D. Gipp W. Cefaluo. et al., (2008).

La vitamina C es una molécula hidrosoluble que se encuentra intra y extracelularmente en la mayor parte de los sistemas biológicos. Reacciona directamente con los radicales libre y se convierte en ácido dehidroáscorbico. El ácido dehidroáscorbico se regenera por la dehidroascorbato reductasa, que utiliza glutatión reducido y la oxidasa GSSG. La Vitamina C neutraliza el oxígeno singulete, captura radicales hidroxilos, captura anión hiperóxidos y regenera la forma oxidada de vitamina E. Este hecho está relacionado con su habilidad para atrapar radicales superóxido e hidroxilo así como para

regenerar el a-tocoferol Davey M. Van M. Inze D. Sanmartin M. Kanellis A. Smirnoff N., (2000).

La vitamina C tiene un efecto mediado por la interacción directa con varias especies reactivas del oxígeno incluidos el ozono y el óxido nítrico, este neutraliza otras especies reactivas como el ácido hipocloroso y regenera la forma activa de otros antioxidantes directos. Además inhibe de forma directa la reacción de formación de especies reactivas del oxígeno mediada por el hierro de las ferroproteínas y el peróxido de hidrógeno.

El yacón, "*Smallanthus sonchifolia*", es conocido como Jíquima en Venezuela, Colombia, y parte de Ecuador. En Perú, Bolivia y norte de Argentina se denomina yacón y en el sur del Perú y norte de Bolivia se conoce como aricoma. Es una raíz nativa de sudamerica y crece en los andes desde los 900m.sn.m. hasta 3.500 m.s.n.m. Grau A. Rea J., (1997).

De acuerdo a la taxonomía el Yacon pertenece a la familia: Asteraceae, al género: *Smallanthus*, a la especie: *Smallanthus sonchifolia poeppg &Endlicher* y su nombre es "Yacón" o " bacón". Existen más de 25 especies conocidas en toda América, desde el Sur de México, América Central y los Andes (Colombia, Ecuador, México, Perú, Bolivia y Argentina).

Es una planta perenne con una altura de 1,5 m y sus hojas pinnatífidas en la base de los tallos y triangulares en la parte apical. Las flores aparecen en racimos terminales. Las raíces son fusiformes o irregulares y desarrollan masas ramificadas en la base de la planta. Generalmente, son de color café claro externamente y la parte interna es anaranjada y carnosa. Así mismo, existen otras variedades de color: blanca, morada y amarilla; llega a medir 20 cm. de largo por 10 cm. de grosor. Chasquibol N., (2002). Se consumen frescas y endulzadas al sol. Se multiplica por brotes de la base de la planta que tenga raíces y de parte del tallo y de las raíces tuberosas. Se siembra en cualquier época del año y no necesita de mayores cuidados, Grau A., (2001). Madura a los seis o siete meses y la parte aérea muere después de florecer. Las raíces tuberosas se pueden almacenar en la oscuridad por meses, Grau A. Rea J., (1997).

La composición química del yacón, agua 87,05 gramos por ciento. En muestra seca: proteína total 2,76 a 2,86; ceniza 2,78 a 2,92; grasa, 0,24; extracto etéreo 0,27 a 0,29; fibra cruda 4,07 a 4,34; carbohidratos de 89,53 a 90,86; azúcares reductores directos 7,04 a 8,14; azúcares reductores totales 25,33 a 27,65 y acidez total de 0,27 a 0,32; cobre 1,14 mg, magnesio 77,2mg, zinc 86 ppm. Ramos R. Arias G., (2010).

A diferencia de la mayoría de raíces y tubérculos que acumulan los carbohidratos en forma de almidón (polímeros de glucosa), el yacón almacena los carbohidratos en forma de inulina y/o oligofructanos (polímeros de fructosa), haciéndolo un alimento ideal para los diabéticos Nieto c., (1991).

La decocción de la cáscara del yacón actúa como un excelente diurético. Las hojas secas son comestibles y tienen un alto contenido de proteínas (11-17%). Roberto C. Mansilla S. López C. Blas R. Chia J., (2006). Actúa como sustituto del azúcar; haciendo hervir el jugo de las raíces se logra una especie de chancaca. En casos de dolores articulares y osteomusculares se usan emplastos de las hojas.

El yacón es un recurso vegetal, valorado por sus propiedades nutricionales y medicinales y ha despertado interés, uso en el tratamiento de la diabetes, pues se le atribuye una acción hipoglicemiante. A la raíz se la considera como alimento prebiótico e hipocalórico, lo cual es debido a su contenido de fructooligosacáridos (FOS), compuestos que no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas de los humanos. En el caso de las hojas, los extractos acuosos han demostrado tener efectos hipoglicemiantes, además de poseer capacidad antioxidante y antimicrobiana.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la capacidad antioxidante de la raíz y hojas frescas de yacón "*Smallanthus sonchifolia*", en sus variedades blanco y morado.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

Tipo de Estudio.

El presente trabajo de investigación es de tipo analítico, experimental, prospectivo y de corte longitudinal.

Descripción del Área Geográfica de estudio.

El estudio se realizó en el “Laboratorio de Bioquímica clínica y Nutricional” del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Lima.

Muestra biológica.

Para el presente estudio se utilizaron las raíces y hojas frescas del Yacón “*Smallantus sonchifolia*”, de variedad blanca y morada; procedente de la Universidad Nacional Agraria la Molina (Foto 01 y 02).



FOTO N° 01: Selección de muestras de hojas y raíz fresca de yacón en el Bioterio de la Universidad Agraria la Molina.



FOTO N° 02: Hojas de yacón utilizadas en el estudio de investigación.

Reactivos.

Los reactivos: Desoxirribosa, Acido ascórbico, Nicotinamida Adenina Dinucleótido Reducido (NADH), Nitro Blue Tetrazolio (NBT), Fenazina Metosulfato (PMS), Acido tricloro acético (TCA), Acido tiobarbitúrico (TBA), ácido acético, metanol, DPPH; fueron adquiridos de la casa Merk Darmstad.

Todas las soluciones usadas para los ensayos fueron preparadas con agua bidestilada.

Método:**Diseño experimental.**

Con el sobrenadante de las muestras se procedió a realizar las determinaciones de la capacidad antioxidante, con las técnicas de Malondialdehído y DPPH* reducido, ABTS* y FRAP. Además, se determinó la concentración de polifenoles, Vitamina C, Flavonoides y Antocianinas de la raíz fresca de yacón y sus respectivas hojas.

Preparación de la muestra:**Raíz fresca de yacón variedades blanca y morada:**

La muestra destinada para los diferentes experimentos se preparó, separando la parte comestible del yacón la que fue homogenizada con agua bidestilada en una proporción de 1:4 utilizando una licuadora. El homogenizado obtenido se filtró y luego se centrifugó a 1500 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante obtenido se utilizó en las diferentes determinaciones bioquímicas para evaluar la capacidad antioxidante del yacón.

Hojas de yacón variedades blanca y morada:

Para la preparación de la muestra; se utilizó 25 g de hojas de yacón las que se colocaron en una probeta y se le adicionò agua bidestilada c.s.p.100 mL y luego se procedió a licuarla. El homogenizado obtenido se filtró y luego se centrifugó a 1500 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante obtenido se utilizó en las diferentes determinaciones bioquímicas para evaluar la capacidad antioxidante de las hojas y raíces de yacón.

Técnicas:

Se examinó la eficiencia de la capacidad antioxidante del yacón, a través de los siguientes sistemas:

a. Sistema: ASCORBATO/Cu-II:

El medio de reacción para la generación de radicales libres tuvo la siguiente composición: La mezcla de reacción consistía en tampón fosfato 50 mM pH 7.4, desoxirribosa 2.8 mM, ascorbato 2.0 mM, cobre 0.02 mM, la muestra (yacón) y agua bidestilada en volúmenes de acuerdo a la naturaleza del experimento, se mantuvo por 30 minutos a temperatura de 37°C en baño maría, a cuyo término se le adicionó ácido tricloro acético (TCA) al 10% y Acido tiobarbitúrico (TBA) 1%, finalmente se sometió a una temperatura de 100° C durante 10 minutos, luego se enfrió y finalmente se leyó en el espectrofotómetro a 532 nm. El volumen final del medio de reacción fue de 4.0 mL.

Principio:

El ácido ascórbico en un medio de reacción a pH 7.4 es oxidado por el ion cúprico formando como productos al peróxido de hidrógeno y ion cuproso, compuestos que posteriormente reaccionan para formar el radical hidroxilo el cual descompone a

la desoxirribosa formando Malondialdehído, el cual reacciona con el ácido tiobarbitúrico en medio ácido y forma un compuesto de color rojizo.

b. Sistema: DPPH*

El medio de reacción contenía, solución DPPH 50 μ M, tampón acetato de sodio 50 mM pH 6, la muestra y metanol en volúmenes de acuerdo al experimento a un volumen final de 3mL. Luego, los tubos se mantuvieron en oscuridad durante 30 minutos y se procedió a dar lectura en un espectrofotómetro a 517 nm.

Principio: La capacidad antioxidante se determinó utilizando el método basado en la reducción del radical libre estable 2,2, difenil- 1-picrilhidrazil a la hidracina correspondiente.

Las sustancias antioxidantes de las muestras reaccionan con el DPPH y ocasionan la reducción del reactivo, lo que produce una sustancia incolora, la intensidad de esta disminución se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm. Los resultados se expresan como CI_{50} , que representa la concentración de muestra (mg/mL) que reduce la absorvancia de la solución de DPPH a un 50%. Un valor menor de CI_{50} indica mayor capacidad antioxidante.

c.- Sistema: ABTS*

El medio de reacción en un volumen final de 2.0 mL contenía 1.9 mL del reactivo ABTS⁺ (ABTS⁺ 7 mM y persulfato de potasio 4.95 mM) volúmenes variables de la muestra problema (yacón). Los tubos de ensayo se colocaron en un baño maría a 37° C durante 10 minutos a cuyo término se leyeron en el espectrofotómetro a 734 nm. Se preparó paralelamente un

blanco que no contenía ABTS^+ y el tubo control al que se adicionó 1.9 mL de la solución de ABTS^+ .

Principio:

Esta técnica se fundamenta en la capacidad de los compuestos antioxidantes de ceder un electrón al radical libre ABTS^+ ocasionándole decoloración que se traduce en una disminución de la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm.

d.- Sistema: FRAP

La determinación de la capacidad antioxidante utilizando el sistema FRAP se realizó en un medio de ensayo que contenía 1.0 mL del reactivo FRAP (FRAP 0.417 mM, cloruro férrico 0.104 mM en tampón acetato 0.3 M pH 3.6) y la muestra (yacón) en un volumen final de 2.00 mL. Se dejó en baño maría a 37° C durante 15 minutos y posteriormente se leyó a 593 nm. Se preparó un blanco que no contenía muestra. Para realizar los cálculos se utilizó una curva estándar preparada con diferentes volúmenes de cloruro ferroso.

Principio: El reactivo 2,4,6-tri-piridil-s-triazina (TPTZ) utilizado en esta técnica se encuentra formando un complejo con el Fe^{3+} el cual es reducido por los antioxidantes a TPTZ-Fe^{2+} , compuesto de intensa coloración azul que absorbe a 593 nm.

Se determinó la concentración de los siguientes componentes posiblemente responsables de la capacidad antioxidante

1. Polifenoles:

Para la determinación de compuestos fenólicos se agregó a la muestra, 1.0 mL del reactivo Folin-Ciocalteu diluido al 1/10, 1.0 mL de carbonato de sodio al 6% y la muestra, se colocó en

reposo por 90 minutos y se leyó en un espectrofotómetro a 725 nm.

Principio: Los compuestos fenólicos se determinan haciendo reaccionar las componentes de las muestras de yacón con el reactivo de Folin-Ciocalteu. Esta reacción es característica para compuestos que tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo de benceno. El reactivo de Folin-Ciocalteu tiene una coloración amarilla que en presencia de un compuesto fenólico se torna de color azul. La intensidad de la coloración azul es proporcional a la concentración de polifenoles y se mide espectrofotométricamente a 765 nm.

2. Vitamina C:

El medio de reacción contenía 0.5 mL de muestra, 0.2 ml Folin-Ciocalteu 1/10, 0.5 mL de ácido tricloroacético al 10%, agua bidestilada 0.8 mL y se mantuvo por 10 minutos a temperatura ambiente a cuyo término se procedió a dar lectura a 760 nm en un espectrofotómetro. Paralelamente se preparó una curva patrón con concentraciones conocidas de ácido ascórbico.

Principio: El reactivo Folin-Ciocalteu es un fuerte agente oxidante que es reducido en medio ácido por un fuerte agente reductor como la vitamina C contenida en los alimentos. La reacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con el ácido ascórbico es altamente específica, en las condiciones del ensayo.

3. Flavonoides:

La determinación del contenido de flavonoides se realizó en un medio de ensayo cuyo volumen final fue de 2.5 mL. A este medio se adiciona la muestra, 0.075 mL de nitrito de sodio al 5%, 0.15 mL de cloruro de aluminio al 10%, 0.5 mL de NaOH 1.0

M y finalmente se lee en el espectrofotómetro a 510 nm. Se preparó un blanco que no contenía muestra. Para la determinación de la concentración de los flavonoides se preparó una curva patrón con catequina.

Principio: Los flavonoides reaccionan en un medio fuertemente alcalino en presencia de nitrito de sodio y una sal de aluminio formando un complejo de color pardo oscuro, cuya intensidad es proporcional a la concentración de los flavonoides.

4. Antocianinas:

El contenido de antocianinas en las muestras de yacón se realizó colocando en dos tubos, uno de ellos conteniendo tampón KCl 0.25 M pH 1.0 y el otro tubo contenía tampón acetato 0.4 M pH 4.5, se les añadieron un determinado volumen de la muestra de yacón, se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 15 minutos, a cuyo término se procedieron a leer ambos tubos en el espectrofotómetro a 510 y 700 nm. Para calcular el contenido de antocianinas se utilizó el $\epsilon = 26,900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, expresándose los resultados como mg equivalentes de cianidin-3-glucósido/g de la raíz o de la hoja.

Principio: La determinación de antocianinas se fundamenta en la transformación reversible que ocurre cuando se modifica el pH del medio de ensayo. En pH 1.0 predomina la forma oxonium de las antocianinas, en cambio, a pH 4.5 predomina la forma hemiacetal, lo que modifica las absorbancias a esos valores de pH y que permiten calcular la concentración de las antocianinas.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS:

La evaluación del efecto antioxidante de la raíz y hojas frescas de yacón se realizaron utilizando cuatro técnicas diferentes: el sistema ascorbato/Cu-II que tiene la propiedad de generar radicales hidroxilo, la técnica que usa el radical libre DPPH, aquella que utiliza el radical libre ABTS⁺ y la que determina la capacidad antioxidante FRAP, estas evaluaciones permitieron obtener los siguientes resultados:

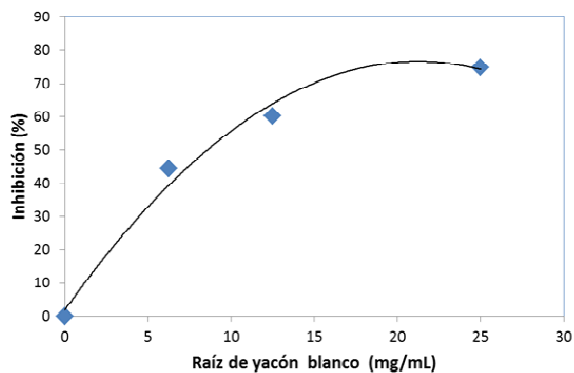


Gráfico 1.- Efecto de la raíz de yacón blanco sobre la generación de radicales hidroxilo realizado por el sistema ascorbato/Cu-II.

La inhibición de la formación de radicales libres generados por el sistema ascorbato/ Cu-II es dependiente de la concentración de la muestra usada, la utilización de 6.25 mg/mL de la raíz de yacón blanco impide la generación de 44.5% de radicales hidroxilo y cuando se utilizó 25 mg/mL solamente pudo generarse 25.1 % (gráfico 1), habiéndose neutralizado la formación de 74.9%. La capacidad antioxidante de la raíz de yacón blanco aumenta de manera hiperbólica cuando se usan concentraciones comprendidas entre 6.25 mg/mL y 25mg/mL. Este efecto se corrobora al regraficar los resultados en doble recíproca conforme se muestra en el gráfico 2.

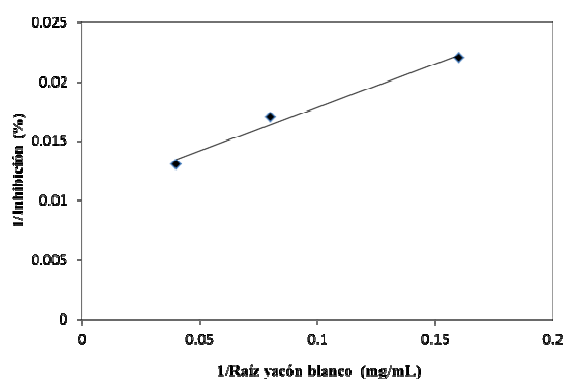


Gráfico 2.- Regraficación del efecto de la raíz de yacón blanco sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.

En la variedad de raíz de yacón morada se obtuvo un resultado similar, la formación de radicales libres usando una concentración de 6.25 mg/mL se genera 57.5%, mientras que en la concentración de 25 mg/mL solamente se genera 22.8% (gráfico 3), es decir, la muestra de yacón impide la formación de radicales hidroxilo en un 77.1%.

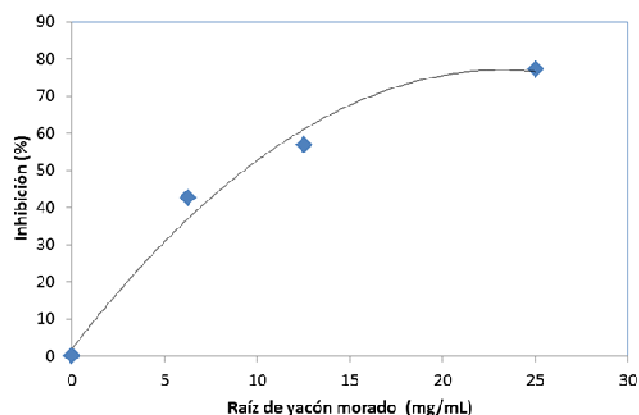


Gráfico 3. Efecto de la raíz de yacón morado sobre los radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu-II.

El comportamiento de la raíz de yacón morada utilizando concentraciones comprendidas entre 6.25 mg/mL y 25.0 mg/mL en un medio de ensayo en la que el sistema ascorbato/Cu-II genera los radicales hidroxilo, permitió obtener una curva hiperbólica cuya regraficación en doble recíproca permite obtener una recta conforme se observa en el gráfico 4.

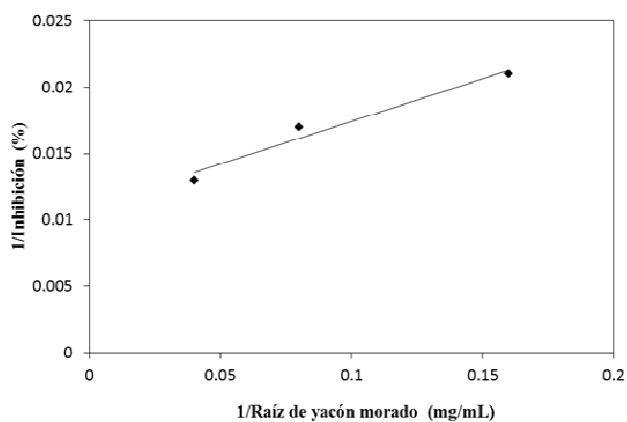


Gráfico 4.- Regraficación del efecto de la raíz de yacón morado sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.

Estadísticamente estos resultados muestran que no existe diferencia significativa entre la capacidad antioxidante entre las variedades blanca y morada, pero sí hay diferencia significativa en las concentraciones expuestas al sistema.

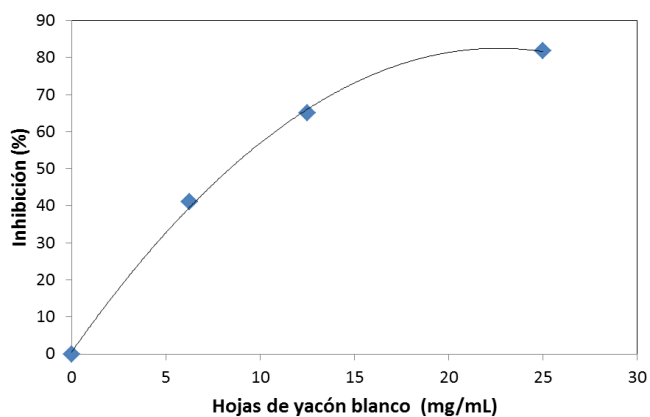


Gráfico 5. Efecto de la hoja de yacón blanco sobre los radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.

Por otro lado las hojas de yacón variedad blanca; según el sistema ascorbato Cu/II, en concentraciones de 25mg/mL, muestra que la formación de radicales libres es 18.2% (gráfico 5).

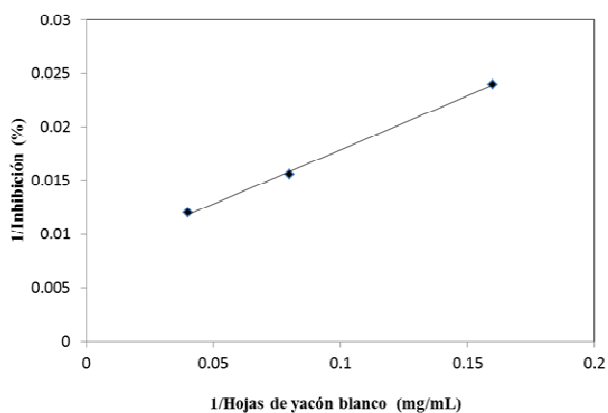


Gráfico 6.- Regraficación del efecto de las hojas de yacón blanco sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.

Así mismo, su capacidad antioxidante aumenta de manera hiperbólica cuando se utilizan concentraciones comprendidas entre 6.25 y 25.0 mg/mL. El comportamiento hiperbólico se corrobora al graficar en doble recíproca, es decir, la inversa de la absorbancia en función de la inversa de la concentración de las hojas de yacón blanca conforme se observa en el gráfico 6.

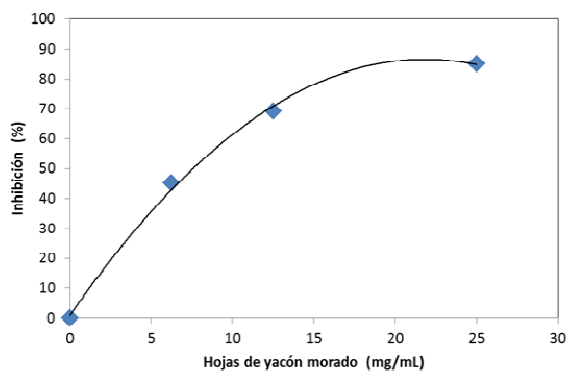


Gráfico 7. Efecto de las hojas de yacón morado sobre los radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.

En las hojas de yacón variedad morada la generación de radicales libres es de 54.9% a una concentración de 6.25mg/mL (grafico 7), y la capacidad antioxidante en concentraciones de 25 mg/mL inhibe 85% la formación de radicales hidroxilo, efecto que se corrobora al regraficar los resultados en doble recíproca (gráfico 8).

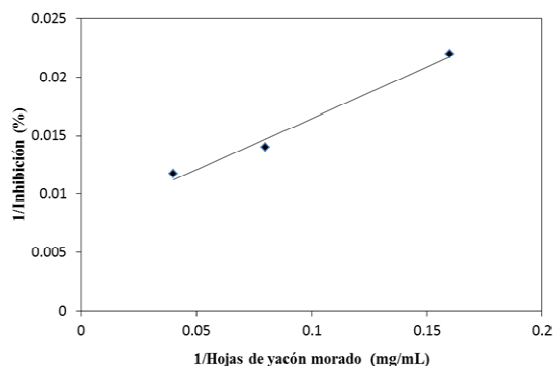


Gráfico 8.- Regraficación del efecto de las hojas de yacón morado sobre la generación de radicales hidroxilo formados por el sistema ascorbato/Cu-II.

La evaluación de la capacidad antioxidante utilizando el sistema del DPPH permite observar (tabla 1) que no existe diferencia alguna entre la hoja morada y hoja blanca, ya que los valores CI_{50} prácticamente son los mismos para ambos tipos de hoja, es decir alrededor de 11 mg/mL.

Tabla 1. Valores CI_{50} utilizando la técnica DPPH de las hojas y raíces del yacón

Yacón	IC_{50} (mg/mL)
Raíz blanca	10.6 ± 1.1
Raíz morada	10.7 ± 1.3
Hoja blanca	11.2 ± 2.5
Hoja morada	11.1 ± 1.1

Así mismo, las raíces de yacón morado y blanco no mostraron diferencias significativas con respecto a los efectos que ejercieron sobre el radical DPPH ya que sus valores CI_{50} son prácticamente iguales, 10.62 mg/mL para el yacón blanco y 10.68 mg/mL para la raíz del yacón morado.

Tabla 2. Valores $ABTS^+$ de las hojas y raíces de yacón blanco y morado

Yacón	IC_{50} (mg/mL)
Raíz blanca	10.00 ± 1.5
Raíz morada	5.38 ± 1.2
Hoja blanca	7.00 ± 1.3
Hoja morada	4.75 ± 1.1

En relación con el comportamiento del yacón frente al radical ABTS⁺ pudo apreciarse que los menores valores CI₅₀ correspondieron a la hoja morada y a la raíz morada, muestras que tuvieron valores de 4.75mg/mL y 5.38 mg/mL respectivamente, así mismo, la hoja blanca y la raíz blanca mostraron valores CI₅₀ de 7.0 mg/mL y 10.0 mg/mL respectivamente, correspondiendo de esta manera la mayor eficacia antioxidante a la hoja morada, conforme se aprecia en la tabla 2 .

Tabla 3. Capacidad antioxidante de las hojas y raíces de yacón evaluadas con la técnica FRAP

Yacón	FRAP (mmoles de Fe-II/100 g de muestra)
Raíz blanca	0.72 ± 0.08
Raíz morada	0.48 ± 0.05
Hoja blanca	0.98 ± 0.09
Hoja morada	0.52 ± 0.04

Con respecto a la capacidad antioxidante evaluada utilizando la técnica del FRAP, se pudo observar que la hoja blanca de yacón mostró la mayor capacidad antioxidante, le siguió en eficacia la raíz blanca correspondiéndole el menor valor a la raíz morada conforme se puede observar en la tabla 3.

Tabla 4. Contenido de polifenoles de hojas y raíces de yacón blanco y morado

Yacón	Polifenoles (mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra)
Raíz blanca	65.84 ± 1.2
Raíz morada	38.86 ± 1.1
Hoja blanca	88.98 ± 1.4
Hoja morada	62.16 ± 1.7

La hoja blanca de yacón muestra el más elevado contenido de polifenoles, siguiéndole la raíz blanca, mientras que la raíz morada posee el menor contenido de este metabolito secundario, conforme se muestra en la tabla 4.

Tabla 5. Contenido de flavonoides de hojas y raíces de yacón blanco y morado

Yacón	Flavonoides (mg equivalentes de catequina/100 g de muestra)
Raíz blanca	26.86 ± 1.5
Raíz morada	14.97 ± 1.2
Hoja blanca	48.23 ± 1.1
Hoja morada	33.26 ± 1.4

Con referencia al contenido de flavonoides la hoja blanca de yacón también mostró un valor más elevado que las otras partes del yacón, siendo la hoja morada la que le sigue en concentración de flavonoides, tal como se observa en la tabla 5, mientras que la raíz blanca tiene un contenido alrededor del 50% menor que la hoja blanca, así mismo, la raíz morada es la que tuvo un menor contenido de flavonoides.

Tabla 6. Contenido de vitamina C de hojas y raíces de yacón blanco y morado

Yacón	Vitamina C (mg/100 g de muestra)
Raíz blanca	10.77 ± 1.1
Raíz morada	5.78 ± 1.5
Hoja blanca	26.54 ± 1.3
Hoja morada	16.23 ± 1.2

En relación al contenido de vitamina C se ha observado que la hoja blanca posee un contenido más elevado de esta vitamina que las otras partes del yacón, correspondiendo a la hoja morada un 40% menor de vitamina C que la hoja blanca. El valor más bajo de vitamina C correspondió a la raíz morada con un valor de 5.78 mg/100 g de muestra, conforme se observa en la tabla 6. Estos resultados muestran que la hoja blanca de yacón posee valores más altos de polifenoles, flavonoides y vitamina C que la hoja morada y que las raíces blanca y morada de yacón.

Tabla 7. Contenido de antocianinas de las hojas y raíces del yacón

Yacón	Antocianinas $\mu\text{moles}/100\text{ g}$ muestra fresca
Raíz blanca	16.21 ± 1.1
Raíz morada	35.12 ± 1.2
Hoja blanca	0.00
Hoja morada	35.10 ± 1.1

Los experimentos, también mostraron que la raíz y hoja morada de yacón contienen mayor cantidad de antocianinas, como se observa en la tabla 7.

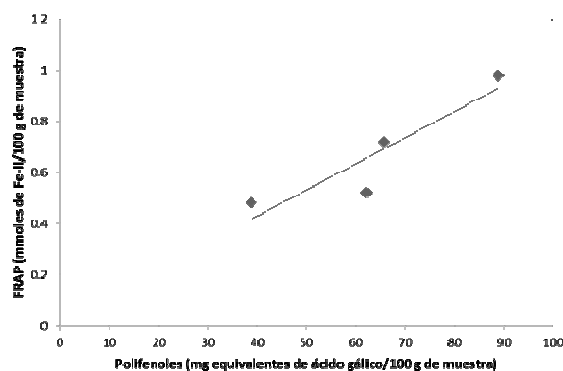


Gráfico 9. Valores FRAP en función del contenido de polifenoles.

Finalmente, es posible apreciar una correlación existente entre las concentraciones de polifenoles de las hojas y raíces del yacón con los valores FRAP de las muestras respectivas, tal como se aprecia en el gráfico 9.

DISCUSIÓN

Las frutas son ricas en diversos compuestos fenólicos como los flavonoides, cuya ingesta en países occidentales está comprendida entre 20 mg y 1g, estas sustancias exhiben propiedades antioxidantes y pro oxidantes. Los compuestos polifenólicos, y dentro de estos los flavonoides, son compuestos presentes en frutas, verduras y algunas bebidas que tienen diversos efectos antioxidantes y bioquímicos benéficos. Los antioxidantes protegen a las células del daño producido por especies reactivas de oxígeno, tales como oxígeno singulete, anión superóxido, radicales hidróxido y peroxinitritos. Numerosos investigadores han determinado la capacidad antioxidante de quercetina, xanthohumol, isoxanthohumol, genisteína, chalconaringenina y naringenina, entre otros polifenoles, Bravo L. (1998).

La capacidad de los flavonoides para actuar como antioxidantes depende de su estructura molecular y la posición de los grupos oxidrilos libres, así: la quercetina (5,7,3',4'-tetrahidroxiflavonol) es el más abundante flavonol de la dieta, es un potente antioxidante, el dihidroflavonol es más efectivo en su actividad antioxidante, mientras que la chalcona y rutina son inactivos, Cotellet N. Bernier J. (1996).

Los mecanismos a través de los cuales ejercen su acción antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de metales de transición (hierro) y secuestradoras de radicales libres (RL), Jovanovic S. Steenken S. (1996). Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipooxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (COX), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO); Lindahl M. Tagesson C. (1997); evitando la generación de ROS *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que

también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A₂ (FLA₂), Sudheesh S. Sandhya C. Sarah K. (1999); al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la CAT y la SOD. De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de ROS y en la formación del radical en sí. Sin embargo, estos compuestos pueden actuar como agentes pro oxidantes, rasgo probablemente responsable de los efectos mutagénicos y genotóxicos también encontrados para algunos de estos metabolitos en diversos sistemas experimentales. Algunos de los mecanismos a través de los cuales ejercen sus acciones pro oxidantes incluyen la reducción temporal de Cu (II) a Cu (I), la generación de ROS, así como la afectación de las funciones de los componentes del sistema de defensa antioxidante nuclear: glutatión y glutatión-S transferasa.

Numerosas evidencias apuntan hacia la protección del ADN ejercida por los flavonoides al inhibir los efectos oxidativos que provocan los ROS sobre esta biomolécula. El pretratamiento con flavonoides, a concentraciones estandarizadas (7,6; 23,2; 93 y 279,4 μ M), en el daño al ADN generado por H₂O₂ (100 μ M) en linfocitos humanos, analizado a través de un ensayo de electroforesis en gel de células individuales (COMETA), redujo el daño oxidativo al ADN. Los compuestos, a la concentración de 270 μ M/L, fueron efectivos en el orden siguiente: luteolina (9 % de inhibición del daño por H₂O₂), miricetina (10 %), quercetina (22 %), kaempferol (32 %), quercitrina (quercetina-3-L-ramnósido) (45 %), apigenina (59 %), quercetina-3-glucósido (62 %) y la rutina (quercetina-3-B-D-rutinósido) (82 %). Se corrobora de esta manera que los flavonoides libres ejercen un mayor efecto protector que los conjugados, Truba P. Marquez H. Martinez S. (1997).

Existen evidencias que la quercetina y la rutina inhiben la NADPH del sistema de la citocromo P-450 en microsomas hepáticos.⁹⁷ Este efecto pudiera impedir el metabolismo de una gran diversidad de xenobióticos que emplean esta vía para generar ROS. Otros estudios sugieren que la quercetina, la morina y la catequina, a concentraciones de 0,125; 0,25 y 0,5 mM respectivamente, protegen las células endoteliales de la aorta porcina

frente al daño inducido por oxirradicales generados por el sistema XO/hipoxantina. La inhibición de la XO ejercida por la morina y por la quercetina fue significativamente mayor ($p < 0,01$) con respecto a la catequina Dehmlow C. (1996).

De forma global, Hertog M. Hollman P. y Putte van de B. (1996), encontraron entre un total de 28 vegetales analizados, que los principales flavonoides presentes en ellos eran la quercetina seguida del kaempferol. El principal aporte de quercetina lo constituye la cebolla (347 mg/kg), la col rizada (110 mg/kg), lechuga (14 mg/kg), y el tomate (8 mg/kg) siendo las principales fuentes de kaempferol la col rizada fresca, el brócoli, las judías verdes francesas y las judías verdes troceadas.

El presente trabajo señala que la raíz y hojas frescas de yacón presentan actividad antioxidante, lo cual se debe a su contenido en polifenoles, que según Murillo (2000); reporta que los compuestos fenólicos son los principales responsables de la actividad antioxidante “*in vitro*” (106).

Así mismo, según el sistema DPPH observado en la tabla 01 la raíz y hojas frescas de yacón demostraron poseer una buena capacidad antioxidante sobre la solución DPPH.

Según Zavaleta J. Muñoz A. Blanco T. Alvarado C. Loja B. (2005). se evaluaron la capacidad antioxidante a través del coeficiente de inhibición al 50% del radical libre DPPH (1,1 difenil2picrilhidrazilo) que según sus resultados indica que el huacatay es el producto más potente antioxidante (9,44mg/mL) seguido del aguaymanto (41mg/mL), la pituca (95,53mg/mL), el tumbo (101,1mg/mL), la sachapapa morada (109,27mg/mL), el sachatolate (140mg/mL), el olluco (147,29mg/mL) y el sachaculantro (213,86mg/mL). Se comprobó así mismo que los alimentos estudiados presentan evidente capacidad antioxidante y que contienen la gran mayoría de los compuestos fenólicos estudiados.

Murillo E. (2010) realizó un estudio de actividad antioxidante según Cl_{50} los resultados muestran que la mora presenta mayor actividad

antioxidante con un (6.9 ± 0.4 mg/mL), seguido de Cas (9.1 ± 1.0 mg/mL), Guanábana (17.3 ± 1.7 mg/mL), Frutas mixtas (23.5 ± 1.7 mg/mL) y Piña (30.0 ± 2.7 mg/mL).

El Zinc forma parte de uno de los dos isoenzimas que componen las superóxido dismutasas, enzimas que emplea el organismo como neutralizadoras de los radicales libres. Este mineral es esencial para la salud humana, ayuda a proteger las células contra el daño oxidativo. Un estudio preliminar conducido por los científicos del Servicio de Investigación Agrícola ha identificado el papel poco conocido del mineral como un antioxidante. Zinc protege las membranas de los glóbulos rojos de la sangre contra los efectos oxidantes de otros minerales tales como el cobre y el hierro.

Lachman J. et al. (2007); evaluaron el contenido total de fenoles en rizomas, hojas y raíces de 5 genotipos de *Smallanthus sonchifolius* procedentes de Nueva Zelanda, Alemania, Ecuador y Bolivia y encontraron que los valores de fenoles presentes en hojas y rizomas dependen de su origen botánico, rasgos morfológicos y los polimorfismos de los diferentes genotipos. Se determinó valores de 9,21 a 18,14 mg de EAG/kg de hoja seca para estos genotipos, correspondiendo los más altos a los de Bolivia y Ecuador. Sin embargo, las hojas de yacón procedentes de Yanamango (Cajamarca) y Chuquibamba (Cajabamba) presentaron un mayor contenido de fenoles.

Por lo expuesto, podemos concluir que el yacón, por su contenido de fenoles totales, flavonoides, vitamina C y antocianinas presenta el mayor potencial antioxidante. Tanto las raíces como las hojas de yacón constituyen un recurso genético promisorio para ser usado como nutracéutico o suplemento alimenticio.

CONCLUSIONES

1. La raíz y hojas de yacón variedad blanca y morada según el sistema Ascorbato/Cu-II, presentan capacidad antioxidante. No se observó diferencia alguna con respecto a la captación del radical DPPH* por las hojas y raíces de los dos tipos de yacón; mientras que las hojas moradas ejercieron la mayor capacidad para captar el radical ABTS⁺ y la hoja blanca mostró la mayor capacidad antioxidante, evaluada con la técnica FRAP.
2. La hoja blanca tiene mayor contenido de Polifenoles, Flavonoides y Vitamina C, mientras que, la raíz y hojas de yacón morado presentan el más elevado contenido de antocianinas.
3. Se aprecia una buena correlación directa entre las concentraciones de Polifenoles de hojas y raíces de yacón con la Capacidad Antioxidante, según FRAP.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el consumo de las hojas de yacón blanco por su gran poder antioxidante y de hojas y raíces de yacón morado, por tener una buena concentración de antocianinas.
2. Incorporar el yacón en el tratamiento dietoterapéutico de pacientes con enfermedades con alto estrés oxidativo.
3. Se recomienda investigar en toxicidad de hojas de yacón.
4. Tanto las raíces como las hojas de yacón, por su contenido de fenoles totales, flavonoides y potencial antioxidante, constituyen un recurso genético promisorio para ser usado como nutracéutico o suplemento alimenticio.

BIBLIOGRAFÍA

- Araya H. Clavijo C. Herrera C. (2006). Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile. Arch Lat. Nutr ALAN;56:4
- Aikens J. Dix T. (1991). Perhydroxyl radical initiated lipid peroxidation: the role of fatty acid hydroperoxides J Biol Chem;266:15091-15098.
- Avello M. (2006). Radicales Libres, antioxidantes naturales y mecanismo de protección. Chile.
- Aybar M. Sánchez R. Grau A. Sánchez S. (2001). Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. J Ethnopharmacol;74:125-32.
- Bellavite P. (1988). The superoxide. Forming enzymatic. System of phagocytes. Free Rad Biol. Med; 4:225-261.
- Bravo L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutr Rev; 56:317-333.
- Bohm H. Boeing H. Hempel J. (1998). Flavonol, flavones and anthocyanins as natural antioxidant of food and their possible role in the prevention of chronic disease; 2:147-163.
- Brown J. Khodr H. Hider R. (1998). Structural dependence of flavonoids interactions with Cu(II) ions: implications for their antioxidants properties. Biochem J; 330: 1173 – 1178.
- Cascales M. (1997). Bioquímica Y fisiopatología del estrés oxidativo. Fundación Jose Casares Gill España.
- Cadenas E. (1997) Biochemistry of oxygen toxicity. Annu Rev Biochem;58:79-110.
- Carrizo P. Dubin M. Stoppani. (1998). Efectos fisiopatológicos del óxido nítrico y su relación con el Estrés oxidativo. Medicina Buenos Aires; 58:367-373.
- Call M. Boughton T. Palmer R. Whittle B. Moncada S. Synthesis of nitric oxide from L- arginine by neutrophils release and interaction with superoxide anion. Biochem J 261:293-296.

- Céspedes M, Ela M. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar radicales libres. Rev Cubana Inv Biomed 1996;15(2):75-8.
- Cieslik E, Greda A, Adamus W. (2006). Contents of phenolics in fruit and vegetables. Food Chemistry, 94: 135 – 142.
- Cotelle N. Bernier J. (1996). Antioxidant properties of hidroxi-flavones. Free radic Biol Med; 20:35-43.
- Chasquibol N. (2002). Estudio Químico y Nutricional de las variedades de la raíz de la *polymia sonchifolia* "yacon". Rev Peruana de Quím e Ing Quim;5(1):37-42.
- Davey M. Van M. Inze D. Sanmartin M. Kanellis A. Smirnoff N. (2000). Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. J. Sci. Food Agric; 80: 825-860.
- Demple B. Linn S. (1982). 5,6-saturated thymine lesions in DNA: production by ultraaviolet light or hydrogen peroxide. Nucleic Acids Res ;10:3781-3789.
- Dehmlow C. (1996). Erhard J. Inhibition of kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of Silibinin Hepatology 1996; 23:749-754.
- Dreosti L. (1996). Bioactive ingredientes. Antioxidants and polyphenols in tea. Nut Rv; 54(11):51-58.
- Ferrandiz M. Alcaraz M. (1991). Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. Agents actions; 32:283-288.
- Fraga C. Shigenaga M. Park J. Degan P. (1990). Oxidative damage to DNA during aging. Proc Natl Acad Sci;87:4533-7.
- Freeman y Grapo. (1982). Association of intravenous lipid emulsion and coagulase- negative staphylococcal bacteremia in neonatal intensive care unitets, Pag. 323-301.
- Frei B. (1991). Ascorbic Acid protects lipids in human plasma and low-density lipoprotein against oxidative damage. Am J Clin Nutr;54:1113-1118.
- Fridovich I. (1983). Superoxide radical: an endogenous toxicant. Annu Rev

Pharmacol Tox; 23 : 239-257.

- Galan P. Mariani E. Hercberg S. (1997). Interes de aporte equilibrados n vitaminas y oligoelementos antioxidants a dosis nutricionales en la prevencion del cancer y enfermedades cardiovasculares. Rev Esp Nutr Comunit; 3:62-73.
- Gil A. Dolores M. Sastre A. Schwartz S. (1998). Nutrición Clínica : Implicancias del estrés oxidativo y de los alimentos funcionales.
- Greene E. Paller M. (1992). Xantine Oxidase produces $O_2^{\bullet-}$ in Posthypoxic injuri of renal epithelial cells. Am J Physiol; 263 : 251-255.
- Guija E. Troncoso L. (2000) Radicales Libres y envejecimiento. Bol Soc Per Quim;66:35-53.
- Gutteridge J. (1994). Biological origin of free radicals. And mechanisms of antioxidant protection. Chem Bio Interact; 91:133-140.
- Gllatthaar B. Horning D. Moser U. (1986). The Role of ascorbic acid in carcinogenesis. Adv Exp Med Biol; 206:357-377.
- Grau A. Rea J. (1997). Yacon "smallantus sonchifolia" (poepp & end 1 andean Roots and tubers: ahip, arrancacha, maca and yacon.ipk and ipgee: 200-242.
- Grau A. (2001). El retorno del yacon, revista de divulgación científica y tecnológica de la asociación científica hoy;11(63):1-10.
- Groot H. Rauen U. (1998). Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. Fundam Clin Pharmacol; 3:249-255.
- Harborne J. (2000). General procedures and measurements of total phenolics.
- Harborne J. (1993). The flavonoids, advances in research since. Editorial Chapman and Hall Londres.|
- Hagiwara A. Yoshino H. Ichiharam T. Kawabe M. Tamano S. Aoki H. et al. (2002). Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (phip)-associated colorectal carcinogenesis in rats. J Toxicol Sci;27:57-68.
- Halliwell B. Gutteridge J. (1984). Oxygen toxicity oxygen radicals, transition metals and desease. Biochem J, 219:1-14.

- Harman D. (1992). Role of Radicals in aging and disease. *Ann N y Acad Sci* ; 673:126-141.
- Higuchi Y. Linn S. (1995). Purification of all forms of Hela cell mitochondrial DNA and assessment of damage to it caused by hydrogen peroxide treatment of mitochondrial or cells. *J Bio Chem*; 270:790-795.
- Hertog M. Hollman P. y Putte van de B. (1996). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines, and fruit juices. *J Agric Food Chem*;41:1242-1246.
- Hirono I. (1987). Bioactive molecular. Naturally occurring carcinogenes of plant origin. Toxicology phatology and Biocchemistry. *Biol Pharm Bull*; 2:120-158.
- Jimenes T. Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades. (2000). *Rev Chil*, 27(2): 214-215.
- Jamieson D. Oxygen toxicity and reactive oxygen. *Free Radic Biol Med*1989; 7: 87-108.
- Jerlick A. Pitt A. Schaur R. Spickett C. (2000). Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. *Free Radic Biol Med* ;28(5):673-82.
- Jialal I, Grurdy S. (1992). Influence of antioxidant vitamins on LDL oxidation. *Ann Ny Acad Sci*; 669:237-248.
- Jovanovic S. Steenken S. (1996). Reduction of flavonoid and model phenoxyl radicals, Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity. *J Chem Soc Perkin trans*; 2:2497-2504.
- Kamei H. Hashimoto Y. Koide T. Kojima T. Hasegawa M. (1998)Anti-Tumor Effect of Methanol Extracts from Red and White Wines. *Cancer Biother Radiopharm*;13(6):447-52.
- Kostiuk V. Potapovich A. (1988). Antioxidant activity of flavonoids in various systems of lipid peroxidation. *Biochem*;53:1365-1370.
- Koide T. Kamei H. Hashimoto Y. Kojima T. Hasegawa M. (1997). Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from Red Soybeans and Red Beans in vitro And in vivo. *Cancer Biother Radio*;12(4):277-280.
- Kuskoski M. Asuero A. Mancini J. Fett R. (2005). Aplicación de diversos

métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment;25(4)

Lachman J. Fernández E. Viehmannová I. Sulc M. Cepková P. (2007). Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. N Zealand J Crop Hortic Sci;35:117-23.

Lezza A. Boffoli D. (1994). Correlation between mitochondrial DNA 4977-bp Deletion and respiratory chain anzyme activities in again human skeletal muscles. Biochem Brophys Res Commun; 205:772-779.

Lindahl M. Tagesson C. (1997). Flavonoides as Phospholipase A2 inhibitors: importase of their structura for selective inhibition of group II phospholipase A2 Inflammation; 21:347-356.

Meister A. Anderson M. (1983). Glutathiones. Annu Rev Bioch;52:711-760.

Miyazawa T. Nakagawa K. Kudo M. Muraishi K. Someya K. (1999). Direct intestinal absorpion of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. J Agric food Chem;47:1083-1091.

Morel F. Doussiere J. Vignais P. (1991) The superoxide generating oxidase phageeytic cells. Phisiological, molecular and pathological aspects. EUR J Biochem;201:523-546.

Murillo E, Sánchez w, Méndez J. (2010). Potencial antioxidante de residuos agroindustriales de tres frutas de alto consumo en el Tolima. Vol.3, num 46. Scientia et Technica Año XVII, No 46.

Muñoz A. Ramos-Escudero F. Alvarado-Ortiz C, Castañeda B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Rev Soc Quím Perú;73(3):142-9.

Nieto c. (1991). Estudios agronómicos y bromatológicos en jicama ("polimia sonchifolia" poeo et ender). Arch latinoamer de Nutr; 41(2):213-221.

Oliva M. Muñoz P. Valls V. (1997). Radicales libres y modificación oxidativa del DNA Implicaciones en la carcinogenesis experimental y humana. Bioquímica y fisiopatología del estrés oxidativo. Gil Madrid.

Organización Panamericana de la Salud. (1997). Conocimientos actuales

- sobre Nutrición, séptima Edición-Washington.
- Oteiza P. (1995). Modificación oxidativa de proteínas. Antioxidantes y calidad de vida;2:12-20.
- Parer L. (1991). Protective role of vitamin E in biological systems Am J Clin Nutr; 53:S1050-S1055.
- Pietta P. (2000). Flavonoids as antioxidant. J Nat Prod; 63:1035-1042.
- Roche E. (1994). Estrés oxidativo y degradación de proteínas. Med Clin;103:189-96.
- Podmore I. Griffiths H. Herbert K. (1998). Vitamin C pro-oxidant properties nature:392-659.
- Proctor P. Reynolds E. (1984). Free radicals and disease in man. Physiol Chem Phys; 16: 175- 195.
- Pryor W. (2000). Vitamin E and heart disease: Basic science to Clinical Intervention trials. Free Radic Biol Med; 28:141-164.
- Prior R. Cao G. (1999). Antioxidant capacity and polyphenolic components of tea: implications for altering in vivo antioxidant status . Proc Soc Exper Biol Med; 220:255-261.
- Rahman A. Shahabuddin S. Hadi S. Parish J. (1989). Strand accision in DNA induced by quercetin and Cu (II) role of Cu (I) and Oxygen free radicals. Carcinogenesis; 10:1833-9.
- Ramos R. Arias G. (2010). Evaluación Químico Bromatológica de las variedades yurac llajum, qello llajum y yurac checche de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl).H. Robinson (yacón) procedente de puno Ciencia e Investigación Laboratorio de Bromatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima; 13(2)
- Reylli P. Burkley G. (1990). Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. Br J Surg;77:1324-5.
- Richardson P. Steiner M. (1993). Adhesion of human platelets inhibited by vitamin E. En: vitamin E in health and disease Paccker L, Funchs. New York.
- Rose R. (1990). Ascorbic acid metabolism in protection against free radical. Biochem Biophys;169:430-436.

- Russo A. Acquaviva R. Campisi A. (2000). Bioflavonoids as antiradicals, antioxidants and ADN cleavage protectors. *Cells Biol Toxicol*; 16:91-98.
- Roberto C. Mansilla S. López C. Blas R. Chia J. (2006). Análisis de la variabilidad molecular de una colección peruana de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl) H. Robinson "Yacón" *Ecol. apl. Lima*;5:1-2.
- Simonovska B. Vovk I. Andresek S. Valentová K. Ulrichová J. (2003). Investigation of phenolic acids in yacón *Smallanthus sonchifolius* leaves and tubers. *Journal Chromatographic*; 1016 (1):89-98.
- Simpson J. Narita S. Gieseg S. y Dean R. (1992). Long-lived reactive species on free radical-damaged proteins. *Biochem J*;282:621-624.
- Stahl W. Sies H. (1997). Antioxidant defense. Vitamins E and C and Carotenoids. *Diabetes*;46:S14-S18.
- Sichel G. Corsaro C. Scalia M. Di Bilio. (1991). In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against $O_2^{\bullet-}$. *Free radic Biol Med*; 11:1-8.
- Southorn P. Powis G. (1988). Free Radicals in Medicine. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc*; 63: 381- 389.
- Sudheesh S. Sandhya C. Sarah K. (1999). Antioxidant activity of flavonoids from *solanum melongena*. *Phytother Res*; 13:393-396.
- Shan X. Awty J. (1990). Glutathiones-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol against oxidative injury. Pharm*;47:61-71.
- Steinberg D. (2000). Is there a potential therperutic role for vitamin E or other antioxidant in atherosclerosis . *curr opin lipidol*; 11:603-607.
- Tejero,E. (1994). Radicales libres y antioxidantes. *Cuad de Nut*; 17(3) 21-28.
- Truba P. Marquez H. Martinez S. (1997). Evaluación de la actividad antioxidante de la Gossypitrina a través de ensayos in vitro. Tesis de diploma. Universidad de la Habana:10-14.
- Thomas S. Stocker R. (2000). Molecular action of vitamin E in lipoprotein oxidation: implications for atherosclerosis. *Free radical boil. Med*;28:1795-1085.
- Tristan F. Kraft B. Schmidt B. Yousef G. Knigh C. Cuendet M. et al. (2005)

- . Chemopreventive Potential of Wild Lowbush Blueberry Fruits in Multiple Stages of Carcinogenesis. *J Food Sci*;70(3):S159-S166.
- Tristan F. Moul D. Rogers R. Ribnicky D. Gipp W. Cefaluo. et al. (2008). Phytochemical Composition and Metabolic Performance-Enhancing Activity of Dietary Berries. *J Agric Food Chem*;56(3):654-660.
- Tasayco N. (2007). Actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Smallantus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. Tesis para optar el grado de Magister en Farmacología con mención en Farmacología experimental. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Turrens J. Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J* 191:421-427.
- Urquiaga I. (1999). Antioxidantes Naturales. Impacto en la salud. Congreso Latinoamericano de grasas y aceites. Santiago de Chile; 1999:8.
- Valenzuela A. Videla L. (1989). Formas activas del oxígeno, estrés oxidativo y su proyección patológica. *Rev Med Chil*;117:60-67.
- Vinnson J. (1998). Flavonoids in food as in vitro and in vivo antioxidants. *Adv Exp Med Biol*; 439:151-164.
- Volpato G. Vieira F. Damasceno D. Cámara F. Di Stasi L. Lemonica I. (2007). Efeito do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* (yacon) em ratas diabéticas. *Rev Bras Pl Med Botucatu*. 2007;9(2):88- 93.
- Wang S. Jiao H. (2000). Capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J Agric food Chem*;48:5677-5684.
- Wang S. Lin H. (2000) Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry is affected by cultivar and maturity. *J Agric food Chem*;48:140-146.
- Wang J. Mazza G. (2002). Inhibitory Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on Nitric Oxide Production in LPS/IFN Gamma-Activated RAW 264.7 Macrophages. *J Agric Food Chem*;50:850-857.

- Yu B. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev*;74:139-162.
- Zavaleta J. Muñoz A. Blanco T. Alvarado C. Loja B. (2005). Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Rev Horiz Méd* 2005; 2(5): 29 – 38.
- Zeng L. Wu J. Fung B. (1997). Comparative protection against oxi radical by three flavonoid on cultured endothelial cells . *Biochem cell Biol*; 75:717-720.

ANEXO N°1

COMPOSICION QUIMICA DEL YACON

CARACTERISTICAS	CONTENIDO
Humedad	81.8
Grasa	0.24
Proteínas	2.69
Carbohidratos	89.95
Fibra	4.08
Zinc (ppm)	86
Vitamina C	

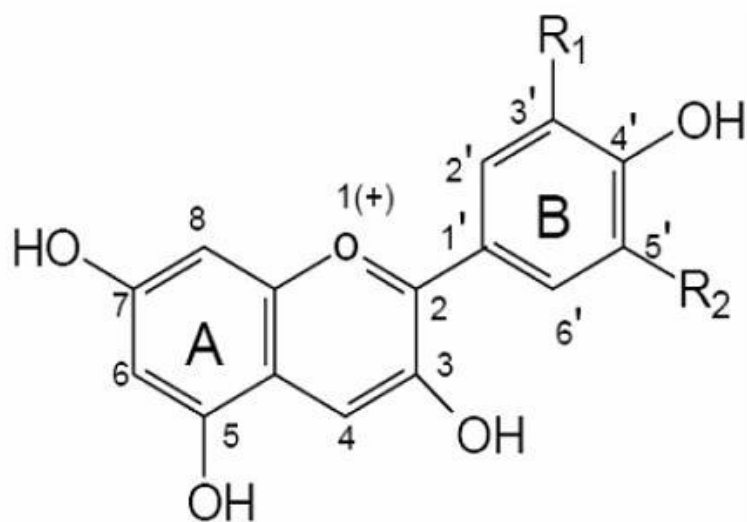
Fuente: Chirinos (1999)

ANEXO N°2

Tabla 1. Características morfológicas de 10 accesiones de yacón procedentes de Cajamarca.

Accesiones	Procedencia	Morfotipo	Descripción morfológica
12	Yanamango, distrito de Jesús, provincia Cajamarca	I	Planta muy ramificada desde la base, tallo púrpura grisáceo, follaje verde amarillento, hojas triangulares, dentadas, ligula de la flor oblonga, amarillo-anaranjado, raíces púrpura grisáceas, pulpa amarillo-anaranjada, propágulos púrpura grisáceos.
25	Chuquibamba, distrito de Cachachi, provincia Cajabamba		
30	Yanac, distrito de Huamachuco, provincia Sánchez Carrión		
87	Can Can, distrito de Cajamarca		
50	Contumazá, distrito de Contumazá		
10	Cumbico, distrito de Magdalena, provincia Cajamarca	II	Planta no ramificada, tallo y follaje verde amarillento, hoja triangular, dentada, ligula de la flor ovada, amarillo-anaranjada, raíces gris anaranjadas, pulpa naranja, propágulos blancos.
90	Bambamarca, distrito de Bambamarca, provincia Hualgayoc		
75	Sapuc, distrito de Asunción, provincia Cajamarca		
94	José Gálvez, distrito de Celendín, provincia Celendín		
125	San Ignacio, distrito San Ignacio, provincia de San Ignacio	VI	Planta no ramificada, tallo verde amarillento, follaje verde oscuro, hoja triangular, dentada, ligula de flor amarillo anaranjado claro, hoja oblonga, raíz gris anaranjada, pulpa blanco amarillenta moteada de púrpura, propágulos rojo púrpura.

ANEXO N°3



Aglicona	Substitución		λ_{max} (nm)
	R1	R2	espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Figura 1. Estructura y sustituyentes de las antocianinas. (Durst y Wrolstad, 2001)